

農林水産省動物検疫所

Animal Quarantine Service

調 査 研 究

業 績 集

Vol.9

令和6年度版



はじめに

動物検疫所では、家畜伝染病予防法などの関係法令に基づき、動物や畜産物の輸出入検査や、国際郵便物や携帯品の検査とともに、動物検疫制度の周知・広報、検疫措置の科学的根拠を担保するための検査体制の整備、検疫措置の有効性評価、検査技術の向上やリスク評価のための調査研究を実施しています。動物検疫所の業務、調査研究等に関する成果については、業務の改善・向上に資することを目的として「動物検疫所業績発表会」を開催し、発表及び討議を通じて所内での情報共有や現場での活用に努めているところです。

新型コロナウイルス感染症に係る規制が撤廃され人やモノの移動が活発化し、昨年の訪日外客数が3,600万人を超えて過去最高となる中、我が国を取り巻く家畜衛生環境は依然として大変難しく、動物検疫所が担う役割はますます重要性を増しています。

昨年5月には、世界及び我が国の食料をめぐる情勢が大きく変化していることを受け、食料・農業・農村基本法が制定から四半世紀を経て改正されました。改正基本法では基本理念に食料安全保障の確保を掲げるとともに、農業の持続的発展に関する施策の一つとして、家畜の伝染性疾病の発生の予防とまん延防止のための施策を講ずる旨の条文が新たに追加されました。

このように社会全体が急速に変化し、「変動性」「不確実性」「複雑性」が取り巻く時代の中で、情勢の変化に対応するための課題を解決していくためには、これまでの経験や既存の方法では対応するのが難しくなっています。このような情勢に対処するためには、国内外の家畜衛生や水際検疫に関する情報を常に収集・分析し、従来の考え方や前例に捕らわれず、フレキシブルでスピード感を持った的確な対応が必要となります。

戦略的な事前対応型の広報、家畜防疫官による法に基づく権限の厳格な行使、動物検疫のパートナーである動植物検疫探知犬による探知活動等、あらゆる手段を総動員し、科学的根拠に基づいた水際検疫の強化・徹底を図っていきます。我が国の水際での動物検疫を司る唯一無二のリスク管理機関として、国民や関係者からの期待に応えるため、動物検疫所全体で責務を果たしたいと考えております。

そのような中、調査研究活動の成果を取りまとめた本調査研究業績集が関係者の方々の動物検疫業務への理解の向上と連携強化への契機となれば望外の喜びとするところです。

令和7年6月
農林水産省動物検疫所

凡 例

動物検疫所の業務及び調査研究における令和6年度の業績のうち、下記3点のいずれかに該当し、広く家畜衛生関係者に情報提供すべきと考えられるものを収録した。

- 1) 家畜衛生関係者等の動物検疫業務に対する理解を深めるもの
- 2) 水際防疫と国内防疫の連携につながるもの
- 3) 国内防疫を担う家畜保健衛生所の検査業務の参考となるもの

目 次

1. 犬・猫輸出入手続窓口の設置と課題	1
2. Office365を活用した業務改革の取組	3
3. 門司支所におけるGSS環境の活用事例について	5
4. 韓国・釜山におけるアフリカ豚熱（ASF）発生を受けた 釜山定期航路の検疫対応	7
5. カナダ産繁殖用豚のサルモネラ症摘発事例	9
6. ニュージーランド産展示用めん羊におけるヨーネ病疑い事例	11
7. マルチプレックスPCRを用いた肉製品の畜種鑑別の 検討について（第2報）	13
8. 馬鼻肺炎と馬インフルエンザを同時に検出する 遺伝子検査法の導入に向けた検証	15
9. 次世代シーケンサーを用いた輸入豚の腸内細菌叢のメタゲノム解析	17
10. 高病原性鳥インフルエンザウイルスの鶏初生ひなへの感染試験	19
11. 赤外線サーモカメラを用いた肥育用素馬の スクリーニング的体温測定への導入	21

【参考資料】

令和6年度動物検疫所業績発表会 発表演題	24
主な外部発表業績（令和6年度）	25

※ご意見・ご質問は動物検疫所HPよりお願いいたします。
<https://www.maff.go.jp/aqs/job/request.html>

犬・猫輸出入手続窓口の設置と課題

【担当】 犬・猫輸出入手続窓口（一元化窓口）/感染症対策専門官

要 約

成田、羽田などの大空港の動物検疫所において、犬猫の輸出入検疫は携帯品として持ち込まれる畜産物の輸入検疫とともに主要な業務となっている。2023年以降、犬猫の輸出入頭数及び携帯品検査数が増加し、これに伴い、犬猫の輸出入に係る問合せも増加し対応に遅延が生じた。問合せ者の利便性の低下は行政サービスの観点からも避けるべき事象であることから、犬猫の問合せ対応専門の窓口を設置し業務改善を図ることとした。

背景と目的

新型コロナウイルス感染症による入国制限の解除以降、出入国者数の増加に伴って犬猫の輸出入頭数は2019年比1.24倍まで増加し（2024年3月時点）（図1）、問合せも増加傾向にある。今後、出入国者数の回復に伴い、輸出入頭数ひいては問合せの更なる増加が見込まれる。

また、畜産物の違法持込みへの対応厳格化（2019年4月）及び家畜伝染病予防法の改正による家畜防疫官の権限強化（2020年7月）を背景に、携帯品検査数も増加している。コロナ禍後は特に顕著で、検査対応に多くの職員を配置する必要があることから問合せに対応する職員の確保が困難になり、各所において電話対応及びメール返信に遅延が生じた。

問合せ対応の遅延による行政サービス低下の解消及び業務の効率化を図るため、まずは全国の犬猫の輸出入頭数の約9割を占める主要3空港（成田、羽田、関西）への問合せに一元的に対応する犬・猫輸出入手続窓口（以下「一元化窓口」）を設置し、専従の職員を配置して問合せへの対応速度の向上を図るべく2024年1月より業務を開始した。

一元化窓口の業務と取組

一元化窓口では、3空港分の電話及びメールによる新規輸出入の問合せへの案内を行う他、必要書類の検査や輸出検査の予約受付などを行っている。書類検査が完了したのから実際に輸出入検査を担当する検査担当課へ引き継ぎし、以降の問合せは検査担当課が対応している。併せてホームページの改善や業務資料の見直しを適宜行い、問合せ者にとってより簡易で分かりやすい案内となり、犬等の輸出入が滞りなく行われるよう検討を重ねている。

現在の課題

上記の取組を急ぎ進めているものの、2024年3～5月には前年同時期を上回る数の問合せがあり（図2）メールへの返信に遅延が生じた。例年では3月を過ぎると輸出入頭数の減少に伴い問合せも減少するが、2024年は3月以降も減少に転じることなく高い水準を維持したままであった。

課題解決に向けた取組

今後も繁忙期にはメールへの返信が遅延することが予想されるため、解消のために職員の増員が不可欠である。また、問合せ件数自体を削減するために、問合せ者にとってより分かりやすい情報発信を心掛ける必要がある。引き続きホームページの見直し、検疫に関する情報発信の改善などの検討を行っていく。

具体的データ

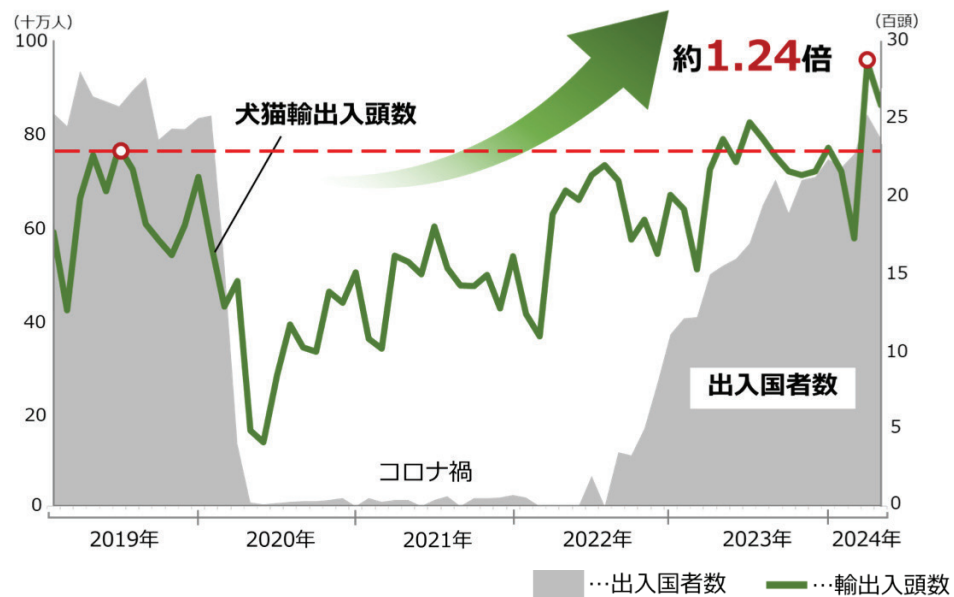


図1 2019年1月から2024年4月までの出入国者数と犬猫輸出入頭数の推移（月別）

参考：出入国管理統計統計表 | 出入国在留管理庁 (moj.go.jp)

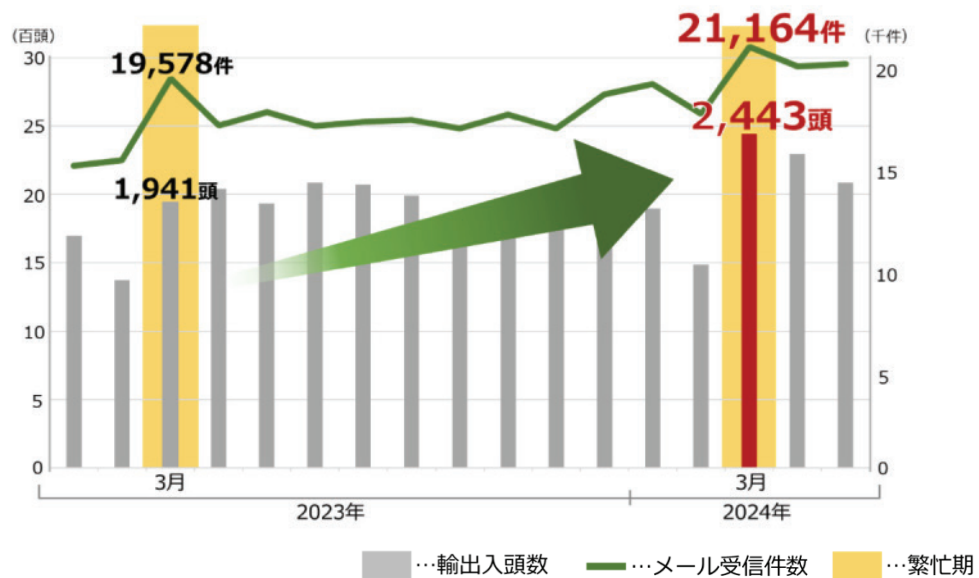


図2 2023年以降の3空港の犬猫輸出入頭数とメール受信件数の推移

要 約

限られた職員で増加する業務に対応するため、Microsoft社のOffice365を活用し、アプリの内製化や業務の自動化に取り組み、業務の効率化を推進した。今後は、より幅広く現場の課題分析を進めるためアプリを作成できる人材の育成を図り、業務の合理化・効率化を更に推進していく。

背景と目的

業務の効率化は生産性向上、ミス削減、コスト削減といったメリットを享受することができ、組織の維持に必要なものである。動物検疫所においては、アフリカ豚熱等の家畜伝染病の侵入防止のための検疫強化に伴い増加する業務量に対応する増員は困難で、システムによる自動処理を含む業務の効率化は避けては通れない課題である。

Microsoft社のOffice365では、アプリの作成やパソコン操作の自動化、データ分析等をプログラミングの知識が無くても達成できるPower Platformと呼ばれるアプリケーション（アプリ）が利用でき、プログラミングを習得していない職員でもアプリの内製化や業務の自動化に取り組むことが可能である。成田支所では本機能を活用し、課題の解決と業務の効率化に取り組んだ。

取組の内容

1. 動植物検疫探知犬の探知実績に係る記録における活用

動植物検疫探知犬（検疫探知犬）の活動に係る探知実績記録は紙に記録しており、活動終了後4時間/日程度かけてエクセルに入力しているため時間を要していることに加えて、作業の二重化による無駄や転記時に誤入力が生じる可能性が課題となっていた（図1）。

上記の課題に対応するため、Power Apps（パワーアップス）を利用して「検疫探知犬実績登録アプリ」を作成した。本アプリは、検疫探知犬の補助者と検査を実施する家畜防疫官が同時に利用でき、双方が入力する情報（探知便の情報、検査結果等）を離れた場所でリアルタイムに反映・共有することができる。また、可能な限り選択式による入力とし、文字入力を減らすことにより誤入力を防止するとともに、速やかな情報登録を可能とした（図2）。

アプリに登録した情報を活用することにより、1日4時間程度要していた入力作業時間を10分間に短縮することが可能となった。

2. 到着便の情報収集に係る作業における活用

携帯品検査業務を効率的に実施するために作成している到着予定便一覧表については、成田国際空港のWebサイトの情報を複数ページコピーし、エクセルに貼り付ける作業に時間を要していた。業務自動化ツールのPower Automate（パワーオートメート）を利用して作業時間の削減を図った（図3）。

Power Automateはコンピューター上で行われる作業（Webサイトへのアクセス、エクセルの起動、データの貼り付け等）を人の代わりに自動で実施してくれるアプリで、本アプリを利用することにより10分程度要していた作業の自動化が達成された（図4）。

今後の方針

Power Platformのアプリは業務改善に有用で、官民を問わず利用が進んでいる。これらのアプリを活用することで、追加の費用をかけずに検査を除く多くの作業の省力化が期待できる。また、実際に作業を行う現場においてシステム化の検討を行うため、現場で“使えるアプリ（プログラム）”の作成が可能である。

一方で、プログラミングの知識が不要とは言え、アプリを利用できる人材育成は必要であることから、所内研修にIT企業等によるOffice365の活用セミナー等を組み込み、職員のITリテラシー向上とアプリの

内製化の推進を図ることが可能と考える。

業務改革の推進のためのOffice365の活用については始めたばかりではあるが、引き続き現場の課題を積極的に分析し、アプリを利用した業務の合理化・効率化を推進していきたい。

具体的データ

動植物検疫探知犬の探知実績に係る記録

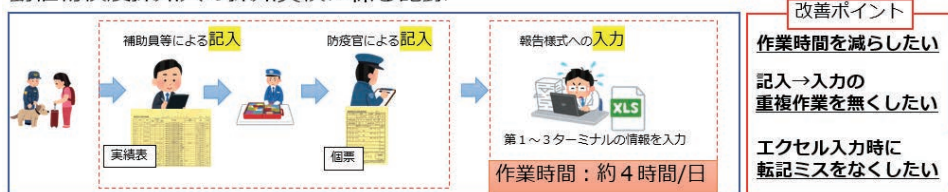


図1 検疫探知犬の探知実績記録業務の課題

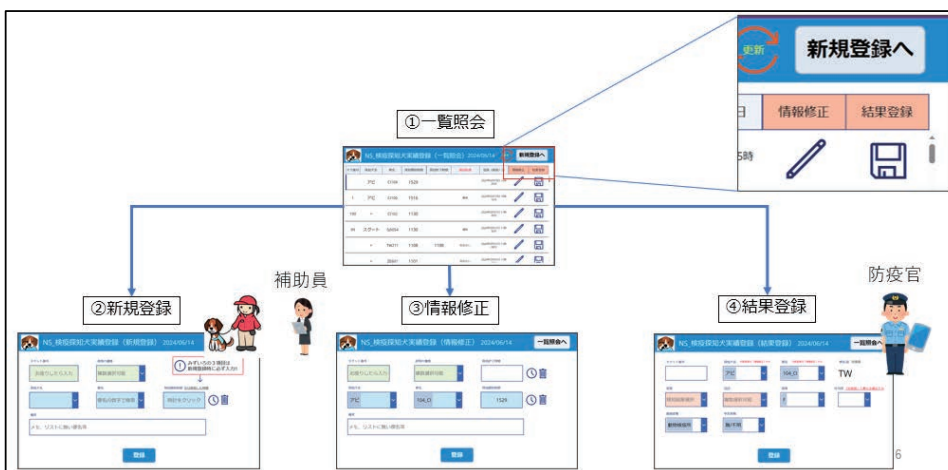


図2 検疫探知犬実績登録アプリの画面構成

到着便の情報作成

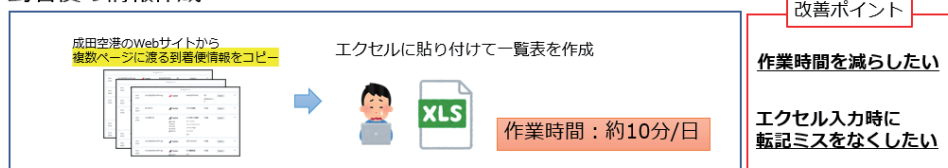


図3 到着便の情報収集業務における課題

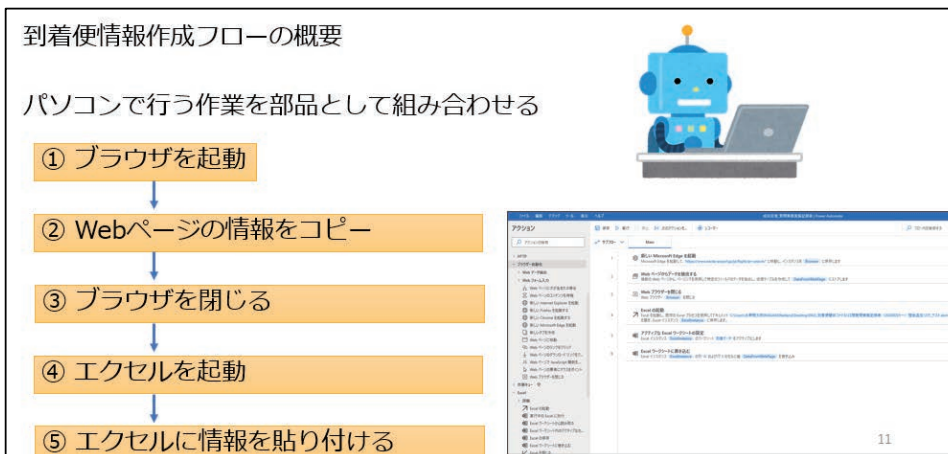


図4 到着便情報作成フローの概要

要 約

従前の省内システム（LANシステム）に代わり導入されたガバメントソリューションサービス（GSS）を活用し、門司支所で作成した専用アプリを用いた遠隔の書類検査の改善と、アンケート作成ツールを使用した指定検査場所事業者に対する動物検疫理解度テストを行った。

背景と目的

門司支所は管轄が広範なため、職員の大半が、地方空海港における検査のために毎日出張等に対応している。また、郵便物の検査、韓国・釜山におけるいのししでのアフリカ豚熱発生に係る検疫強化対応も加わり、事務所に在席する職員が慢性的に少なくなり、特に輸出入貨物の書類検査の滞留や畜産物の輸出入検査場所指定要領の改正を受けた指定検査場所に対する管理強化の実施方法が課題となっていた。

従前のLANシステムでは、事務所以外で省内ネットワークを利用する際は、セキュリティ上の制約から、専用のPCや通信機器等の環境が必要であった。また、PCのスペックも低く、使用できるアプリは基本的なOfficeソフト程度であった。令和5年から移行したGSSでは、SIM内蔵の専用端末により、時間と場所を問わず安全にGSSネットワークにアクセス可能となったほか、様々なアプリや私用端末の活用（BYOD：Bring Your Own Device）等、多様な業務遂行環境が整備された。これらGSSの機能を活用し、課題の解決に取り組んだ。

遠隔の書類検査

1. 課題

出張等により事務所に在席していない職員に対して遠隔で書類検査を依頼する場合、LANシステムでは通信の確保が困難であった。これに加え、依頼は申請書類をネットワーク接続サーバ上に一旦保存した上で電話やメールで連絡するか、メールに申請書類を添付して送信する必要があった。この煩雑さが書類検査滞留のリスク要因となっていたため、改善の必要があった。

2. 取組内容

GSSに移行したことで通信は確保できたが、書類検査の依頼は引き続き電話やメールで行う方法であり、依頼作業が煩雑な状況のままであった。検討の結果、GSSで使用可能となったアプリ（Power Apps）で書類検査依頼を簡易に行える門司支所オリジナルの「書類検査アプリ」を作成し、全職員が使用可能とする環境を整備することとした。

3. 取組結果

依頼画面（図1）と担当者画面（図2）からなる書類検査アプリは、申請書類の送付と各連絡、進捗状況の確認が1つのアプリで完結できるように作成した。このアプリを使用したところ、連絡に要する手間が省力化され、併せて書類検査が円滑になった。また、進捗状況確認機能の活用を含めた適切な進捗管理により、複数名による強固なリスク管理体制も整備できたと考えられた。

図1 依頼画面

図2 担当者画面

指定検査場所事業者に対する動物検疫理解度テストの実施

1. 課題

令和6年2月末の指定検査場所一斉更新作業の中で、門司支所は指定場所に対する管理強化の一環として、事業者への動物検疫理解度テストの実施を計画した。当初書面で理解度テストを実施することを検討したが、動物検疫所側は採点作業に長時間要するとともに職員の業務負担が増加する可能性があり、事業者側は採点結果を得るまでに受験者が自らの解答を忘失し、管理強化不十分となるおそれがあるという2点の懸念が生じた。

2. 取組内容

懸念解消のため、GSSで使用可能なアプリのうち、正答・解説の表示、採点及び集計が自動で行える機能を有し、各種テンプレートが準備されているアンケート作成ツール（Forms）を使用することとした。

3. 取組結果

理解度テストにFormsを使用したところ、準備では主に作業を行う1名と、ダブルチェック等の補助を行う1名の計2名で作業を行うことができ、集計は自動で行うことができるため職員の業務負担増加を抑制できた。事業者に対しては、理解度テストに文章問題に加えて画像等を選択肢にすることによる実践的な設問を設け、書面と同等以上のテストを実施することができた。さらに、解答送信後すぐに正答や解説が確認できるよう設定（図3）したことにより、書面と比較してより効果的な理解醸成を行うことができ、省力化に留まらない好ましい効果があったと思われる。

また、集計結果を定量的な理解度の把握を行うために分析し、その結果を職員に周知して、以後の現地調査等を実施する際に活用した。

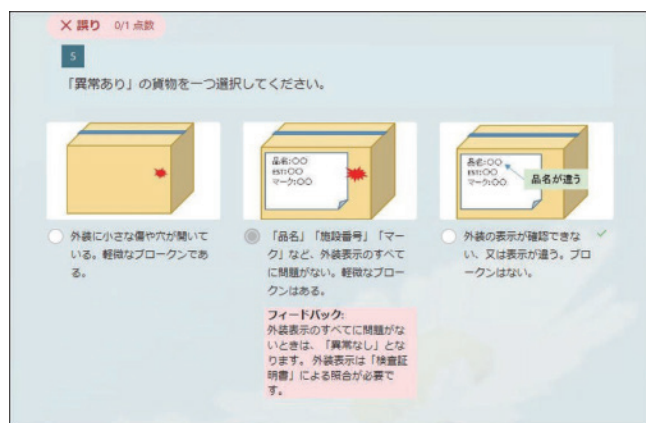


図3 問題と解説

4. ツールの利用拡大

上述の機能を転用し、職員に対して、リスク管理の実効性確認を目的とした輸出入畜産物検査手順書とリスク一覧に係る所内テストを実施した。その結果についても、定量的な理解度把握を行い、職員の畜産物検査やリスク管理に対する認識の傾向把握や、より理解を深めるきっかけとして活用している。

まとめと今後の展望

書類検査アプリの使用やFormsの活用は、現時点では検疫第1課及び検疫第3課のみで導入しているが、今後は門司支所管内の各出張所でも導入を進め、課や出張所の垣根を越えた書類検査や、弾力的な人員配置にも活用することを検討したい。

また、今回使用したような機能を発展させていくことで、全国的に支所の枠に捕らわれない書類検査の依頼や、畜産物検査申請受付の総合窓口の設置が可能となると思料される。

要 約

韓国におけるアフリカ豚熱（ASF）は北部から東部を中心にして発生していたが、2023年12月、釜山広域市において野生いのししの陽性事例が確認された。翌年1月には日本との間で定期航路がある釜山フェリーターミナル近くの山での継発がみられるなど、我が国への侵入リスクの高まりを受け、水際対策強化を図った。

背景と目的

新型コロナウイルス感染症の影響により運休していた釜山との定期航路（博多、対馬（比田勝・厳原）、下関、大阪）は、2022年末から徐々に復便し、人・物の動きが回復しはじめた。このような中、韓国においては2023年5月に口蹄疫の発生があり、当所では家畜伝染病の侵入防止に緊張感をもって当たっていたところ、釜山でのASF発生（図1）により、一層の対策強化が求められた。

取組の内容

1. 水際対策の再点検・強化

（1）肉製品の持込防止

輸入禁止品である肉製品の持込防止のため、その所持の有無について確認するための家畜防疫官による入国者への質問（口頭質問）を行っている。全ての入国者に対して口頭質問が行えるよう、税関との調整により入国動線を見直し、変更するとともに、言語の違いを考慮し視覚的に理解を高めるため、摘発頻度の高い肉製品を示したパネルを使用した（図2）。また、入国者による輸入禁止品の自主的な放棄を促すために設置している放棄ボックスについては、認知度を上げるため、より目立つよう配置場所を変更するとともに、ポップを活用し見せ方の工夫を行った（図3）。旅客の荷物から畜産物等を嗅ぎ分ける動植物検疫探知犬（探知犬）についても活動を行っている。さらに、入国旅客にとどまらず、全ての外国貨物船の船員に対しても、港湾管理者等の協力を得て肉製品持込防止に係る注意喚起を行った。

（2）要消毒物品への対応

入国者に対して行っている靴底消毒については、消毒薬の有効濃度を維持しつつ、より実効性を高めるため、入国動線の見直し等も踏まえ消毒用マットの増設を図った。さらに、釜山での発生が山林に生息するいのししであったこと、ASFウイルスの特性として環境中に長期間残留すること等を考慮し、汚染された土壌を介した侵入リスクを低減させるため、入国者が持ち込む自転車やトレッキングシューズ等への消毒が確実に実施できるよう、入国時には案内パネル（図4）を用い、状況に応じて対応する家畜防疫官を増員した。また、畜産関係車両及び土などが付着している車両については、消毒実施のためフェリーへの搭載が確認されると当所へ連絡が来ることになっているところ、船舶会社に対して、釜山におけるASFの状況を説明しつつ、改めて連絡体制の維持について協力を要請した。

2. 広報

来日する者の旅行計画段階から「日本への肉製品の持込禁止」を意識できるよう、船舶会社のホームページに動物検疫に係る情報を掲載（当所該当HPのリンク貼り付け）してもらうほか、対馬市の協力により、韓国内の旅行代理店に対して我が国の制度説明（資料配布）の実施、釜山港フェリーターミナルにおけるポスター掲示や広報用ティッシュの設置など（図5）、「出国前から日本に持ち込ませない対策」のための広報を強化した。また、県、関係機関等と実施した広報キャンペーン時には、新聞社・テレビ局に広く取材を呼び掛け、これらを通じた国内への情報発信を図った。

今後の方針

2024年4月21日以降、釜山でのASF発生は確認されていないが、韓国北部では飼養豚に発生が継続的に見られ、警戒が必要である。ASFを含め、家畜伝染病の侵入を阻止するため、船舶会社等の関係機関の理解

と協力を得つつ、感染状況を注視し、広報を中心とした「出国前から日本に持ち込ませない対策」、入国時における口頭質問と探知犬の活動及び消毒対応などの「到着時における対策」の2つの観点を中心に、この先も取り組んでいく。

具体的データ



図1 韓国及び釜山における ASF の感染拡大
(農林水産省 HP より)

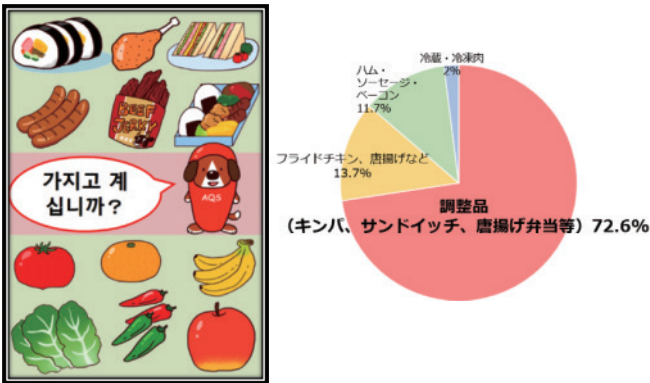


図2 手持ちパネルと禁止品回収実績



図3 放棄ボックス設置の工夫



図4 自転車・靴等の要消毒物品の消毒



図5 韓国側チェックインカウンターに
設置した動物検疫広報ティッシュ

要 約

2024年1月9日に本所係留施設へ入検したカナダ産繁殖用豚において、*Salmonella* Typhimurium (ST) の単相変異株（非定型ST）によるサルモネラ症を摘発した。動物検疫所で豚のサルモネラ症が摘発されたのは1999年以来の事例であり、この豚群では最終的に2頭から非定型ST、4頭から監視伝染病以外のサルモネラ属菌が分離された。

背景と目的

豚サルモネラ症は下痢を主徴とする疾病であり、発症豚の死亡や発育不良により経済的損失をもたらす。また、人における食中毒原因菌の1つであることから、公衆衛生上も重要な疾病である。サルモネラ属菌には多くの血清型が知られているが、家畜伝染病予防法では特定の血清型を原因としたものを「豚サルモネラ症」として届出伝染病に指定している。当該豚群からは、豚サルモネラ症の原因菌である非定型STの他に監視伝染病以外のサルモネラ属菌が複数分離された。

摘発の概要と検疫対応

当該豚群の輸入頭数は73頭（雄61頭、雌12頭）、年齢は3～5か月齢、生産農場は2か所だった。収容畜舎は、2畜舎を使用し、1房につき4頭ほどで群飼していた（図1）。検疫期間後半に、検疫番号46で間欠的な水様性下痢便の排出が認められたため、この個体の直腸スワブを直接ESサルモネラ培地Ⅱ（栄研化学）に画線塗抹して分離培養検査を実施した。培養の結果、非定型STが分離（図2）されたため、当該豚を豚サルモネラ症として摘発した。

摘発個体隔離後に全頭の豚サルモネラ症分離培養検査（全頭検査）を1週間間隔で2回実施したところ、新たに1頭（検疫番号43）から非定型STが分離された。また、2頭から*S. Alachua*、1頭から*S. Kedougou*と監視伝染病以外のサルモネラ属菌も分離された。新たに豚サルモネラ症として摘発した検疫番号43については、直ちに隔離を行った。

新たな摘発個体が認められたため、抗菌剤による治療を全頭に7日間実施した。抗菌剤投与を終了した後、再度1週間間隔で2回全頭検査を実施したところ、摘発豚2頭を含め非定型STは分離されなかったため、検疫48日目に全頭解放した（図3）。

当該ロットでは、最終的に2頭からST、4頭から監視伝染病以外のサルモネラ属菌が分離され、この6頭は全て同一生産農場由来であった。また、分離されたサルモネラ属菌の分子疫学解析では、ST、*S. Alachua*、*S. Kedougou*のPFGE像がそれぞれ一致し、さらに非定型STの全5株は、SNP遺伝子型別で全てSNP9型に型別¹⁾され、同一由来株が維持されていたと推察された。

今後の方針

発生状況及び検査結果から、生産農場が複数のサルモネラ属菌に汚染されている可能性が考えられたことから、輸入者に本調査結果をフィードバックし、生産農場でサルモネラ症検査を実施することを推奨した。また、当所では次回同一生産農場から輸入された際に、輸入検疫中に症状の有無にかかわらずサルモネラ症検査を実施することで、国内への侵入防止に努めることとした。

参考文献

- 1) Nobuo Arai., *et al.* (2018):Phylogenetic Characterization of *Salmonella enterica* SerovarTyphimurium and Its Monophasic Variant Isolated from FoodAnimals in Japan Revealed Replacement of Major EpidemicClones in the Last 4 Decades. *J Clin Microbiol.* 56:e01758-17.

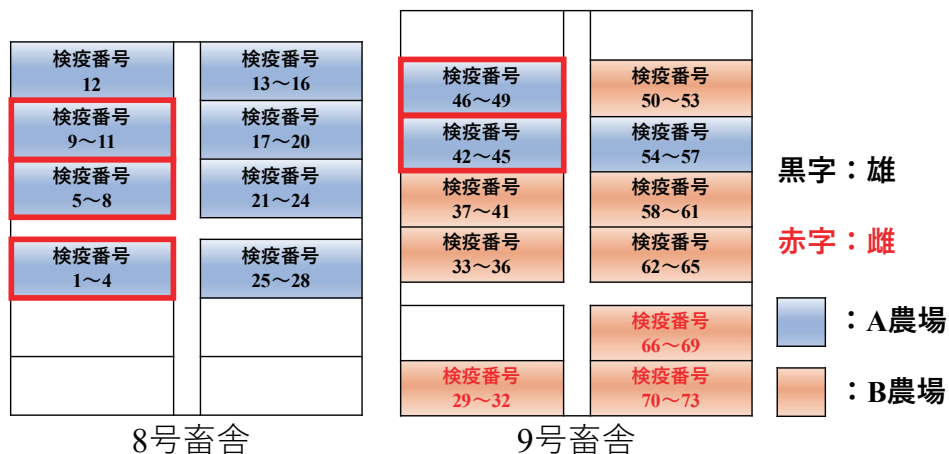


図1 畜舎収容図

赤枠はサルモネラ属菌が分離された個体がいた房

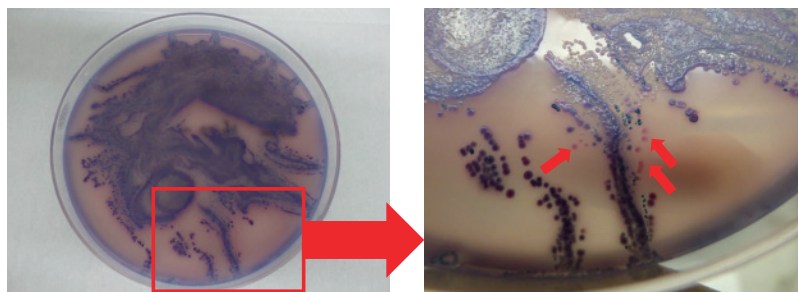


図2 ES サルモネラ培地Ⅱで37℃24時間培養したコロニー

ピンク色のコロニー(右写真矢印)がサルモネラ属菌のコロニー

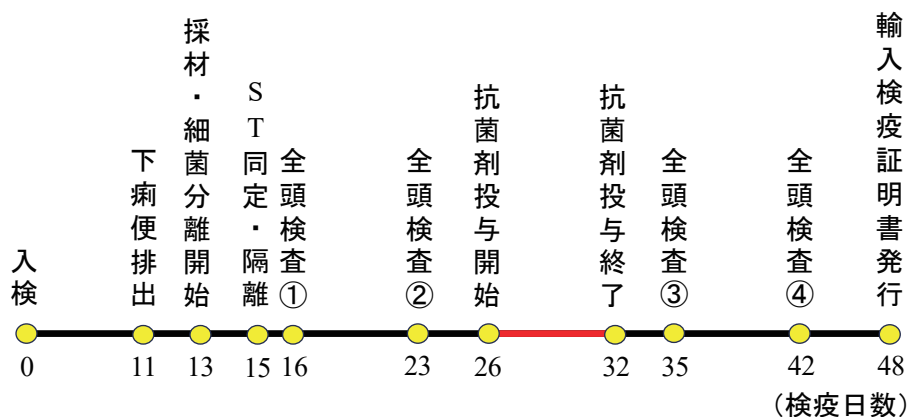


図3 当該豚群の輸入検査中の対応

要 約

2023年5月に輸入されたニュージーランド（以下「NZ」という。）産展示用めん羊9頭中1頭について、係留期間中に実施したヨーネ病検査の結果、当時の家畜伝染病法予防法施行規則の別表第一（以下「規則」という。）に規定されているヨーネ病検査の判定で、患畜、疑似患畜には該当しないものの、ヨーネ病を拡散するおそれがあることから解放しないこととし、自衛殺処分を行った。

経 緯

当該めん羊群は、当初2農場由来の10頭が輸入される予定であったが、NZ当局への申入れにより実施を求めていた生産農場でのヨーネ病遺伝子検査で1頭が陽性となったため、この個体を除いた9頭が輸入された。

当所で係留期間中に実施した検査では、NZでヨーネ病遺伝子検査陽性となった個体と同一生産農場由来の5頭の内1頭（検疫番号9）が、複数のヨーネ病検査で陽性となった。

検疫番号9のヨーネ病検査結果

1. 臨床検査

係留期間を通し、臨床上的異常は認められなかった。

2. 細菌学的検査結果

検疫3日目に採材した糞便を用いた糞便培養検査は陰性であった。

3. 遺伝子学的検査

検疫3日目に採材した糞便を用いたスクリーニングリアルタイムPCR検査（以下「SCrPCR」という。）は陽性、SCrPCRと同じ検査材料を用いたヨーネ菌定量PCR検査は定性陽性（0.0006pg/2.5μL）、検疫10日目に採材した糞便を用いたSCrPCRは陰性であった。

4. ヨーニン検査

陽性（腫脹差2.64mm、硬結あり）であった。

5. 補体結合反応検査

疑陽性（5倍希釈血清で75%以上の溶血阻止）であった。

6. 自衛殺処分後の検査

剖検では、空回腸粘膜部で全体的な充血は認められたものの、肥厚は確認されず、その他、ヨーネ病に特徴的な所見は確認されなかった。

剖検時に採材した材料（表1）を用いたSCrPCRでは、回腸及びリンパ節（回盲、回腸部）で陽性となった。

病理組織学的検査では、HE染色において、ヨーネ病に特徴的な所見は認められなかった。また、チールネルゼン染色においても、菌体は確認されなかった。

検疫対応

1. 検疫番号9について

当時の規則の患畜、疑似患畜には該当しない（表2）ものの、ヨーネ病を拡散するおそれがあるため、仕向先都道府県宛に摘発通知を発行した。その後、輸入者より自衛殺承認願が提出され、自衛殺処分を行った。

2. 同居めん羊8頭について

係留期間中にヨーネ病含めその他監視伝染病を疑う臨床症状が認められず、各種検査も陰性であったことから、仕向先都道府県と協議したうえ、30か月齢までの移動自粛や30か月齢時のヨーネ病遺伝子検査等を輸入者に指示したうえで、解放することとした。

考察及び今後の方針

検疫番号9は、輸出国におけるヨーネ病遺伝子検査で陽性となり輸入されなかった個体と同一生産農場由来であったことから、本農場がヨーネ菌に汚染されていた可能性が高いと考えられた。防疫対策の一つとして、ヨーネ病清浄農場からの家畜の導入が推奨されている¹⁾ことから、めん羊を輸入するにあたっては、生産農場においてヨーネ病が臨床的、微生物学的又は血清学的に5年間摘発されていないこと、を求めているところである。しかしながら、本摘発事例を踏まえると、遺伝子検査の実施に関する規定の追加等の検討の余地があると考えられる。

参考文献

1) 明石博臣、内田郁夫、大橋和彦、後藤義孝、須永藤子、高井伸二、宝達勉（2019年）：動物の感染症＜第4版＞、108

具体的データ

表1 剖検時に採材した材料一覧

回腸末端部	回腸遠位部	回腸中位部	回腸近位部	回腸腸間膜リンパ節
空腸	回盲リンパ節	乳房上リンパ節	糞便	空腸腸間膜リンパ節

ピンク色網掛け部分は、SCrPCRで陽性となった材料である。

表2 家畜伝染病予防法施行規則（平成29年版）の別表第一

検査方法 種類	臨床 検査	抗原検査			ヨーニン 検査	抗体検査	
		細菌検査		遺伝子検査		予備的抗体 検出法(ス クリーニ ングELISA)	補体結合 反応検査 (CF)
		直接 鏡検	糞便 培養	リアルタイム PCR			
患畜			陽性				
				≥ 0.001pg/2.5μL			
					≥ 2mm		≥ × 10
疑似患畜					≥ 4mm		≤ × 5
					2～4mm		× 5
					< 4mm		≥ × 10
検疫番号9	係留期間を 通し異常なし		陰性	①定性陽性 (0.0006pg/2.5μL) ②陰性	陽性 (2.64mm、硬結あり)		疑陽性

①検疫3日目に採材した糞便を使用 ②検疫10日目に採材した糞便を使用

規則（平成29年版）では、検疫番号9は患畜、疑似患畜のいずれにも該当しなかったものの、ヨーネ病を拡散するおそれがあるため、自衛殺処分を行った。

要 約

動物検疫所では、海外から持ち込まれる畜肉製品が動物検疫対象物（指定検疫物）に該当するか否かを判断する検査法として、牛・豚・鶏の各遺伝子を同時に検出できるマルチプレックス-コンベンショナルPCR（以下「cPCR」という。）を実施している。今回、より効率的かつ迅速な検査法として、「反すう動物・豚・鶏」、「反すう動物・豚・犬」、「反すう動物・豚・馬」を同時に検出できるマルチプレックス-リアルタイムPCR（以下「rPCR」という。）の検証を行った。その結果、cPCRより簡便で迅速かつ幅広い畜種の鑑別が可能となった。

背景と目的

動物検疫所では、アフリカ豚熱（ASF）等の侵入リスクの高まりを踏まえ、海外からの肉製品の違法な持ち込みに対し厳格に対応しているが、持ち込まれた物が指定検疫物に該当するか否か判断が難しい場合がある。現在、この判断の一助としてcPCRを実施しているが、cPCRは電気泳動等多くの工程があり煩雑かつ長時間を要するため、2020年以降、簡便で迅速なrPCRの開発に取り組んできた¹⁾。今般、cPCRの牛・豚・鶏の3畜種を検出する手法に代わり、「反すう動物・豚・鶏」、「反すう動物・豚・犬」、及び「反すう動物・豚・馬」の3通りの組合せを同時に検出するrPCRの開発を目的とし、試薬及びその組合せの検証並びに検出感度の検証を行った。さらに、現場への導入を視野に入れ、加工品・調製品でも検査可能なrPCRのプロトコルの確立を目指した。

取組の内容

反すう動物についてはEuropean Union Reference Laboratory for Animal Proteins in feedingstuffs が公開している飼料中反すう動物遺伝子検出検査の標準作業書²⁾を、豚、鶏、馬については田邊らの論文³⁾を、犬についてはRahmanらの論文⁴⁾を参考にプライマーとプローブの設計と反応条件の検討を行った。目的の遺伝子量になるよう階段希釈した牛・豚・鶏・犬・馬由来DNAテンプレートをPCRに供したところ、1チューブ当たりそれぞれ0.01ng～0.0001ngまで検出ができ（表1）、畜種鑑別検査として十分な感度が得られた。次に、持ち込まれる事例の多い加工品・調製品でも供試可能か反すう動物・豚・鶏の3種を同時に検出するrPCRを用いて検証を行ったところ、1検体を除く全ての検体でいずれかの畜種の遺伝子が検出され、成分表、持込者が申告した畜種若しくは家畜防疫官の判断した畜種とおおむね一致した（表2）。

本手法は牛・めん羊・山羊等を「反すう動物」として鑑別できる検出系をrPCRに採用し、「反すう動物・豚」の2種に「鶏」「犬」「馬」のいずれかを組み合わせた3通りの検出系により幅広い畜種を一本のチューブ内で判定可能となり、合否判断の効率化に大きく寄与することが示唆された。

今後の方針

今回の検証で畜種鑑別rPCRの実用性について確認できたが、製品の加工度や調味料の影響により遺伝子が検出できないケースも想定されるため、最終的な合否判定には申告や容器包装の成分表、見た目による総合的な判断が必要と考えられる。また、一般的にリアルタイムPCRはコンベンショナルPCRよりも操作自体は簡便であるが、検査原理や非特異反応があった場合等の結果の解釈については、遺伝子検査についての知識と習熟が必要な点に留意すべきである。

今後は非特異反応をできるだけ抑えられるような細かい検査条件の調整や判定基準等、運用についてよく検討した上で実用化を目指したい。

参考文献

- 1) 動物検疫所成田支所動物検疫第2課、精密検査部病理・理化学検査課（2020）. マルチプレックスPCRを用いた肉製品の畜種鑑別の検討について. 農林水産省動物検疫所調査研究業績集Vol.6 令和2年度版
- 2) European Union Reference Laboratory for Animal Proteins in feedingstuffs (2021). EURL-AP Standard Operating Procedure Detection of ruminant DNA in feed using real-time PCR. Version 1.3
- 3) Tanabe, S. et al. (2007). A real-time quantitative PCR detection method for pork, chicken, beef, mutton, and horseflesh in foods. Bioscience, biotechnology, and biochemistry, 71(12), 3131-3135.
- 4) Rahman, M. M. et al. (2016). TaqMan probe real-time polymerase chain reaction assay for the quantification of canine DNA in chicken nugget. Food Additives & Contaminants: Part A, 33(1), 10-18.

表1 牛、豚、鶏、犬、馬肉由来遺伝子を用いた rPCR の検出感度の検証結果

1 チューブ当たり テンプレート DNA 量 (ng)	牛	豚	鶏	犬	馬
1	+	+	+	+	+
0.1	+	+	+	+	+
0.01	+	+	+	+	+
0.001	+	+	+	+	—
0.0001	—	+	+	+	—

表2 違法に持ち込まれた肉加工品・調製品での rPCR 検証結果 (抜粋)

畜種(申告)	畜種(成分表)	rPCR 判定結果	検体概要
豚	豚	反すう、豚	ソーセージ 
豚	不明	反すう、豚、鶏	魚介入り練り物 
牛	不明	反すう、鶏	味付き干し肉 
豚	不明	反すう、豚、鶏 遺伝子の検出なし	手作り肉味噌 

要 約

馬鼻肺炎ウイルス（EHV-1、4）及び馬インフルエンザウイルス（EIV）を同時検出可能なMultiplex realtime RT-PCR（以下Multiplex）の導入に向けた検証を実施した。EHV-1、4の検出感度は現行法より100倍高く、EIVの検出感度は現行法より10倍低いもののウイルス排泄期間にEIV遺伝子を検出可能であったことから、本法の導入はEHV、EIVの迅速かつ高感度な検査を可能にすることが示唆された。

背景と目的

輸入検疫における馬の係留期間は10日間であるが、輸送疲労等に起因する発熱が認められた場合、鑑別のため馬鼻肺炎や馬インフルエンザなどの検査を疾病ごとに実施している。また、EHVは神経病原性遺伝子変異株が近年海外で増加しており、国内への侵入リスクを低減するため検査の必要性が高まっている。これらのことからEHV-1、EHV-4、EIVを同時に検出するMultiplexの導入に向けた検証を実施した。

取組の内容

1. Multiplexの材料と方法

EHV-1、4のGlycoprotein B遺伝子、EIVのNucleoprotein遺伝子を標的とした（表1）。抽出試薬はQIAamp Viral RNA Mini Kit（QIAGEN）を、増幅試薬はQuantiNova® Probe RT-PCR Kit（QIAGEN）を用いた。PCR条件は、増幅試薬のプロトコールに従い設定した（表2）。

2. Monoplex realtime RT-PCR(以下Monoplex) とMultiplexの感度と特異度の比較

EHV-1、4 抽出DNA、EIV抽出RNAを10倍階段希釈（ 10^0 - 10^{-8} ）し、検量線を比較した。いずれもプライマー、プローブのみと特異的に反応し、各希釈倍率のCt値は同等であった。EHV-1、EHV-4、EIVの増幅効率、Monoplexで104.4%、103.4%、81.3%、Multiplexで109.9%、105.7%、86.1%、 R^2 値は全て0.99以上であった。

3. 現行法とMonoplex、Multiplexの検出限界の比較

取組2と同一の検体を用いて、現行法（EHV-1、4:Glycoprotein C遺伝子を標的としたLAMP法、EIV:matrix protein遺伝子を標的としたインターカレーター法）と検出限界を比較した。現行法、Monoplex、Multiplexの検出限界は、EHV-1は 10^{-3} 、 10^{-5} 、 10^{-5} 、EHV-4は 10^{-2} 、 10^{-4} 、 10^{-4} 、EIVは 10^{-6} 、 10^{-4} 、 10^{-5} であった（表3）。

4. 実験感染馬における有効性評価

EHV-1及びEIV実験感染馬各3頭の感染前（PID 0）から感染後14日目（PID14）まで経時的に採材した鼻腔スワブを用い、MultiplexのCt値と、EHV-1はBannaiらの報告¹⁾のinverted repeat 6（IR6）遺伝子発現量（copies/mL）、EIVはウイルス力価（ $ED_{50}/200\mu\text{L}$ ）を比較した。EHV-1はIR6遺伝子発現をPID1～6で認めたのに対し、MultiplexはPID1～5は全検体、PID6は2検体でCt値を検出した。EIVはウイルス力価をPID1～6で認めたのに対し、MultiplexはPID1～8は全検体、PID9は1検体でCt値を検出した（図1）。

考察及び今後の方針

Multiplexは標的遺伝子を特異的に検出し、Multiplex化による増幅効率への影響は認められなかった。EHV-1、4 検出感度は現行法より100倍高く、実験感染馬においても既知の検査法¹⁾と同等の感度でEHV-1遺伝子を検出可能であった。EIV検出感度は現行法の1/10であったが、ウイルス排泄期間にEIV遺伝子を検出可能であったことから、動物検疫所における本法の導入は限られた係留期間の中でEHV、EIVを同時に迅速かつ高感度に検出可能とすることが示唆された。今後、EIVはより適切なプライマーとプローブの検討、EHV-4は実験感染馬における有効性評価、EHV-1、4はウイルス力価とCt値の比較を実施する必要がある。

参考文献

- 1) Hiroshi Bannai, Yoshinori Kambayashi, Manabu Nemoto, Minoru Ohta, Koji Tsujimura (2022): Experimental challenge of horses after prime-boost immunization with a modified live equid alphaherpesvirus 1 vaccine administered by two different routes, Archives of Virology, 168:27, 1-10

表1 プライマー、プローブの標的遺伝子及び配列

Virus	Target	Sequence(5'-3')	増幅サイズ
EHV-1	Glycoprotein B	CATGTCAACGCACTCCCA	63bp
		GGGTCGGGCGTTTCTGT	
		(FAM)-CCCTACGCTGCTCC-(MGB)	
EHV-4	Glycoprotein B	GGGCTATTGGATTACAGCGAGAT	59bp
		TAGAATCGGAGGGCGTGAAG	
		(VIC)-CAGCGCCGTAACCAG-(MGB)	
EIV	Nucleoprotein	GAAGGGCGGCTGATTGAGA	63bp
		TTCGTCGAATGCCGAAAGTAC	
		(NED)-CAGCATAACAATAGAAAGGA-(MGB)	

表2 PCR条件

温度	45°C	95°C	95°C	60°C
時間	10m	5m	15s	30s
サイクル	1	1	40	

表3 検出限界の比較 (希釈倍率)

	現行法	Monoplex	Multiplex
EHV-1	10^{-3}	10^{-5}	10^{-5}
EHV-4	10^{-2}	10^{-4}	10^{-4}
EIV	10^{-6}	10^{-4}	10^{-5}

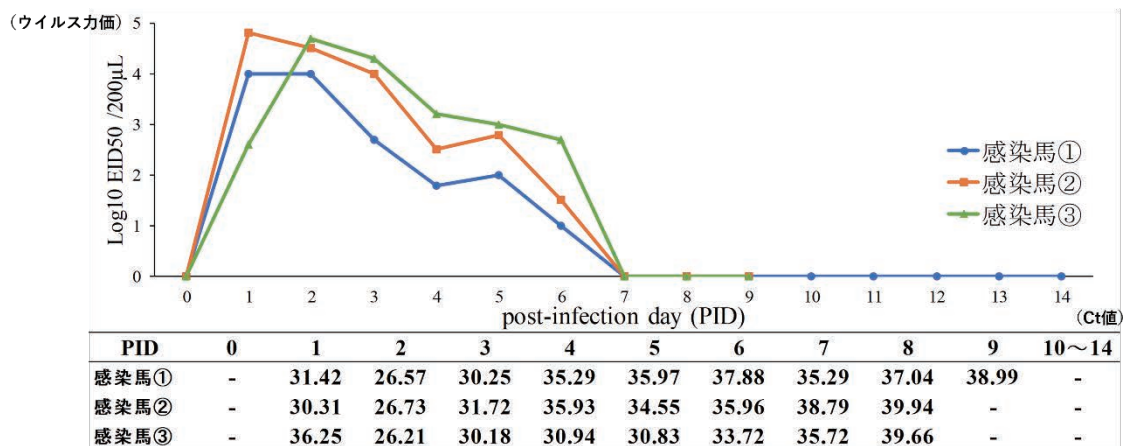


図1 EIV実験感染馬におけるウイルス排泄期間とMultiplex rRT-PCRの比較

要 約

次世代シーケンサー（NGS）を用いた16Sアンプリコンメタゲノム解析により、輸入検疫期間中に消化器症状を示さない輸入豚の腸内細菌叢を比較解析した結果、検疫1日目と検疫8日目で変化していることが明らかとなった。

背景と目的

輸入豚が輸入検疫期間中に下痢等の臨床症状を呈した場合、病性鑑定を実施し、監視伝染病の関与を否定するが、症状の明確な原因を特定できないことが多い。輸入動物にとって、長時間の輸送や飼養環境の変化によるストレスが下痢等の臨床症状の要因となる可能性が考えられるが、これまでにこれらのことが科学的に検証されたことはなかった。本調査研究では、輸入豚における検疫期間中の腸内細菌叢の推移について基礎的なデータを収集するため、消化器症状を示さない輸入豚を対象として、NGSを用いた16Sアンプリコンメタゲノム解析による腸内細菌叢の比較解析を実施した。

材料と方法

成田支所天浪検疫場に入検した輸入豚において、検疫1日目と検疫8日目に同一個体16頭から直腸便を採取した（計32検体）。DNA抽出後、16S rRNA遺伝子のV4領域のアンプリコンPCRを実施し、ライブラリー調整を行った。次世代シーケンサー iSeq（Illumina社）を用いて塩基配列を決定し、フリーソフトの Qiime2（ver. 2021.4）を用いて16Sアンプリコンメタゲノム解析を実施した。

結 果

輸入豚における門レベルでの検体の細菌叢構成は主に *Bacillota* 門、*Bacteroidota* 門、*Spirochaetes* 門で構成されており、これは先行研究において報告されているもの¹⁾と類似していた（図1）。個体単位での細菌種の豊富さの指標となる α 多様性は、検疫1日目と比較して検疫8日目で低下していた（表1、図2）。また、主座標分析では、検疫1日目と検疫8日目の細菌叢は異なるクラスターを形成していた（図3）。さらに、複数の細菌（属レベル）の構成率が、検疫1日目と8日目の比較で増加、または減少していた（図4）。

考察および今後の展望

今回の解析より、消化器症状を示さない輸入豚における腸内細菌叢の検疫期間中の推移について、基礎的なデータを収集することができた。加えて、腸内細菌叢は輸入検疫期間中に変化していることが明らかとなった。検疫期間中に給与された飼料に含まれる *Bacillus* 属菌、乾燥乳酸菌体末、飼料用酵母などの菌に着目し、1日目と8日目で占有率を比較したところ変化していたことから（図5）、給与飼料の変更が占有率の変化に関与した可能性が考えられた。一方、豚の腸内細菌叢の構成は、系統ごとに異なると報告されており²⁾、輸出国において品種ごとに分けて飼養されていた輸入豚が係留施設で1群にまとめて飼養されたことも、腸内細菌叢の変化に影響を及ぼした可能性が考えられた。

今後は、検疫期間中に下痢等の消化器症状を示す個体についても腸内細菌叢解析を実施し、更なる比較解析を行うことで、検疫期間中の病性鑑定への応用の可能性について検討する。

参考文献

- 1) 伴（徳田） 智美（2020年6月1日）：ブタへの生菌剤（ビタコーゲン）添加が成育成績、飼料の消化性および腸内細菌叢へ及ぼす影響、日本畜産学会報91（3）、217-225

2) Yingping Xiao (2017年2月23日) : The fecal microbiota composition of boar Duroc, Yorkshire, Landrace and Hampshire pigs、Asian-Australasian Journal of Animal Sciences (AJAS) Volume 30(10)、1456-1463

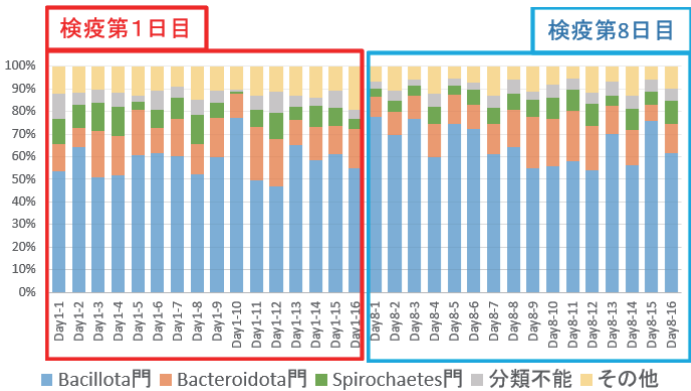


図 1 細菌構成率(門)

表 1 α 多様性解析結果(平均値抜粋)

	Group Day 1	Group Day 8
Observed features	487±SE	422±SE
Chao1	504±SE	432±SE
Shannon index	8.13±SE	7.79±SE

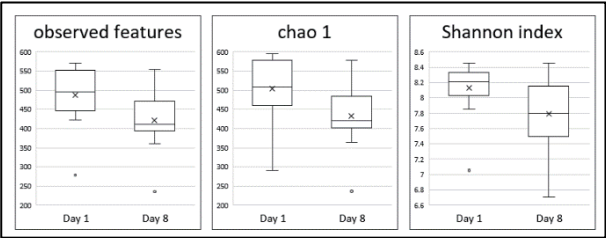


図 2 α 多様性解析結果

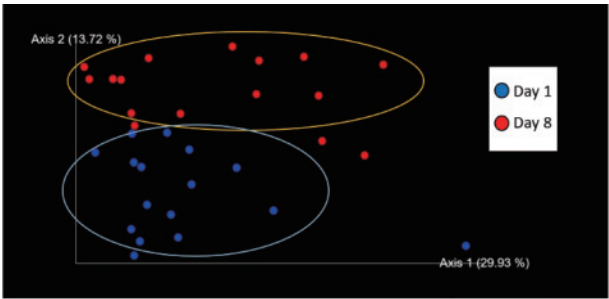


図 3 主座標分析

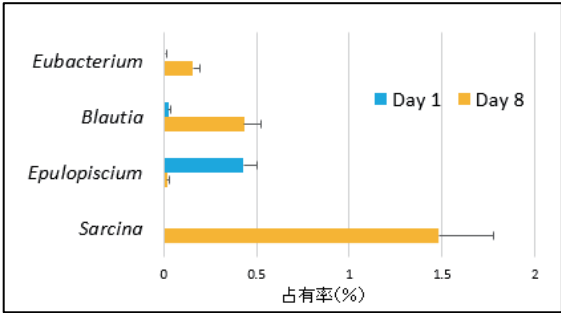


図 4 占有率の変化

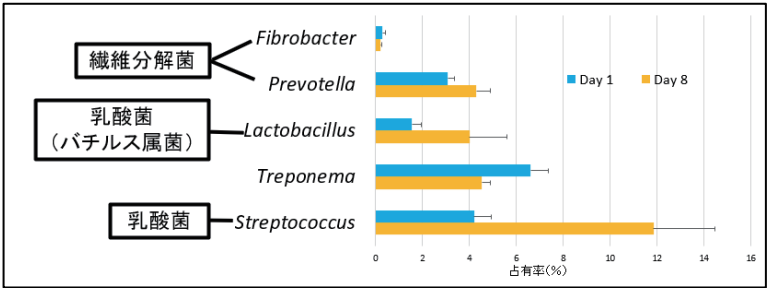


図 5 主な属菌の変動

要 約

鶏初生ひなが高病原性鳥インフルエンザウイルス（HPAIV）に感染した場合の知見を得るため感染試験を行った。その結果、感染後に死亡した鶏初生ひな（以下「死亡ひな」という。）の大半は観察可能な異常は認められず、臨床所見のみでの判別は困難と考えられた。一方、死亡ひなは、実施した全ての検査で陽性であり、検査時に死亡したひなを対象とする現行の検査体制は有効であることが示唆された。

背景と目的

成鶏がHPAIVに感染した場合は、沈鬱、肉冠及び脚部のチアノーゼ等の臨床症状を呈する。一方、我が国に輸入される家きんの多くを占める鶏初生ひなが感染した場合の臨床症状、感染に必要なウイルスの量・体内分布、排出期間等の知見は十分に得られていない。そのため、鶏初生ひながHPAIVに感染した場合の知見を得ること、また、動物検疫所が行っている現行の検査対応が適切か検証することを目的に鶏初生ひなが孵化後から日本到着までにHPAIVに感染したことを想定した感染試験を行った。

取組の内容

1. 感染試験

2020年11月に新潟県で採取されたハクチョウ糞便から分離されたA/swan/Niigata/151118/2020 (H5N8)（以下「Sw/Niigata」という。）を 10^2 、 10^4 及び 10^6 EID₅₀/0.1mLに調製し、各ウイルス液0.1mLを4羽／群とした鶏初生ひなに接種した（ウイルス接種群は、以下「 10^2 群」、 10^4 群、 10^6 群」という。）。試験期間は初生ひなの輸入検疫期間を想定し、接種日（0日目）から14日目までとした。接種後2日目までに9羽（ 10^2 群：1羽、 10^4 群及び 10^6 群：全羽）が死亡したが、外観から判別可能なチアノーゼ等の異常所見は認められなかった。ただし、死亡直前の様子が観察できた 10^4 群1羽のみで、呼吸促拍や羽のばたつきを認めた。また、残りの 10^2 群3羽は接種後14日目まで生存（以下「生存ひな」という。）した。

2. 検査結果

接種後1～7、10、14日目に鶏初生ひなから採材した口腔及びクロアカスワブで、抗原検出キットによる簡易検査、LAMP法、3種類（M遺伝子検出SYBR Green法及びProbe法並びにH5亜型遺伝子検出Probe法）のリアルタイムRT-PCR（以下「rRT-PCR」という。）、ウイルス力価測定を行った（表1、2）。なお、簡易検査、LAMP法及びrRT-PCRは群ごとにスワブをプールして検査を行った。また、生存ひなは接種後14日目に採血を行い、抗体価測定を行った（表2）。

接種後1日目：簡易検査及びLAMP法では接種濃度の低い 10^2 群で陰性となった。rRT-PCRは全群の口腔スワブで陽性であったが、クロアカスワブは 10^2 群及び 10^4 群で陰性であった。ウイルス力価測定では 10^4 群1羽の口腔スワブで17.8 ($10^{1.25}$) TCID₅₀/0.1mL、 10^6 群2羽の口腔スワブでそれぞれ10.0 (10^1)、13.3 ($10^{1.125}$) TCID₅₀/0.1mLと僅かなウイルス排出を認めた。

接種後2日目：簡易検査、LAMP法及びrRT-PCRの検査で全群とも陽性であった。ウイルス力価測定では、死亡ひなの口腔スワブで最大1000.0 (10^3) TCID₅₀/0.1mL、クロアカスワブでは最大3162.3 ($10^{3.5}$) TCID₅₀/0.1mLのウイルス排出が認められた。なお、生存ひなではウイルスは検出されなかった。

接種後3日目以降：生存ひなは、簡易検査、LAMP法及びrRT-PCRの全ての検査で陰性であった。また、試験期間中ウイルスは検出されず、HI抗体価も2倍未満であった。

考 察

試験を通して、 10^2 群3羽はウイルス遺伝子の増幅が認められず、抗体も陰性であったことから、感染が成立しなかったものと推測された。したがって、鶏初生ひなはSw/Niigataに感染すれば死亡し、その感染に

は 10^2EID_{50} 程度のウイルス量が必要であると考えられた。また、感染後は短期間で死亡するため、異常所見を観察できる機会が限られることに加え、チアノーゼ等の外観から判別可能な異常所見は認められず、日本到着時の所見のみで温度感作等による死亡か否かの判別は困難と考えられた。一方で、接種後1日目のrRT-PCRは口腔スワブで全群陽性であり、死亡ひなでは簡易検査、LAMP法及びrRT-PCRの全ての検査で陽性であったことから、死亡したひなを対象とする現行の検査体制は有効であるが、到着時の死亡ひなの簡易検査を徹底することはより早期の摘発に有効であることが推測された。また、感染時期によっては、日本到着時に異常が認められない可能性があり、係留期間中は通常実施する検査（採材時検査）に加え、死亡の増加等の異常所見が見られた際の適切な検査（随時検査）の実施が有効であることが示唆された。

具体的データ

表1 簡易検査、rRT-PCR及びLAMP法の検査結果 (NT:未実施)

検査法	接種群 (EID_{50})	口腔スワブ					クローアスワブ				
		1	2	3	...	14	1	2	3	...	14
		AM	PM				AM	PM			
簡易検査 抗原検出キット	10^6	+	+		...		—	+		...	
	10^4	+	+	+	...		—	+	+	...	
	10^2	—	+	NT	—	...	NT	+	NT	—	...
rRT-PCR Probe法 (M)	10^6	+	+		...		+	+		...	
	10^4	+	+	+	...		+	+	+	...	
	10^2	+	+	NT	—	...	—	+	NT	—	...
rRT-PCR Probe法 (H5)	10^6	+	+		...		+	+		...	
	10^4	+	+	+	...		+	+	+	...	
	10^2	+	+	NT	NT	...	NT	+	NT	NT	...
rRT-PCR SYBR Green法	10^6	+	+		...		+	+		...	
	10^4	+	+	+	...		—	+	+	...	
	10^2	+	+	NT	—	...	—	+	NT	—	...
LAMP法	10^6	+	+		...		+	+		...	
	10^4	+	+	+	...		—	+	+	...	
	10^2	—	+	NT	—	...	—	+	NT	—	...

表2 ウイルス価測定及び抗体価測定結果 (NT:未実施)

接種群 (EID_{50})	個体 No.	口腔スワブ ($\text{TCID}_{50}/0.1\text{mL}$)					クローアスワブ ($\text{TCID}_{50}/0.1\text{mL}$)					HI 抗体価
		1	2	3	...	14	1	2	3	...	14	
		AM	PM				AM	PM				
10^6	1	<0.3	562.3		...		<0.3	2371.4		...		
	2	<0.3	56.2		...		<0.3	31.6		...		
	3	10.0	749.9		...		<0.3	42.2		...		
	4	13.3	749.9		...		<0.3	316.2		...		
10^4	1	<0.3	1000.0		...		<0.3	<0.3		...		
	2	17.8	17.8		...		<0.3	421.7		...		
	3	<0.3	23.7		...		<0.3	17.8		...		
	4	<0.3	4.2	42.2	...		<0.3	<0.3	100.0	...		
10^2	1	<0.3	<0.3	NT	<0.3	...	<0.3	<0.3	NT	<0.3	...	<2
	2	<0.3	<0.3	NT	<0.3	...	<0.3	<0.3	NT	<0.3	...	<2
	3	<0.3	<0.3	NT	<0.3	...	<0.3	<0.3	NT	<0.3	...	<2
	4	<0.3	4.2		...		<0.3	3162.3		...		

※この感染試験は、関係法令を遵守し、動物検疫所動物実験委員会の承認を受け実施している。

要 約

当支所では輸入動物の体温測定に赤外線サーモグラフィカメラ（IRT）を活用している。直腸体温との比較において、IRTでは発熱個体の8割弱、40℃を超える高発熱個体については9割以上を検出できた。IRTによる測定は操作が容易で、その機動性により再測定が可能であり、馬の保定も不要であるため、飼養管理人の負担軽減、事故リスク低減につながるほか、多頭数入検時の発熱馬検出のためのスクリーニングとしても有用である。

背景と目的

当所に入検する肥育用素馬の体温の測定は、従来直腸温度により実施してきたが、1ロットに約100頭と多頭数となるうえ、人に馴致されていないため、保定のための作業負担が大きく、事故リスクの低減が望まれていた。そこで当所では、2022年以降IRTによる体温測定を目指し、検証を重ね⁽¹⁾、現在ではIRTを正式に導入し、飼養管理人により発熱馬検出のためのスクリーニングとして日常的に使用されている。今回、飼養管理人によるIRT測定データと直腸温を比較し、IRTの有効性を再検討するとともに、当所での現状の運用方法及び留意点を取りまとめた。

取組の内容

1. 調査対象・比較の方法： 2022年8月から2024年5月までに当所に入検した素馬全3,197頭を対象とし、係留期間中に全頭の直腸温度の測定及びIRT測定を両方実施する日（IRT検証日）を設け、比較材料とした。発熱の判定として、直腸温度では39.0℃以上、IRTでは周囲の個体と比べて眼瞼周囲で高温を示す個体あるいは体表の描出領域が広い個体を対象とした（図1）。日常のIRT測定は、当所職員が測定技術を認定した飼養管理人によって実施されているが、IRT検証日には飼養管理人、当所職員両方で測定を行い、馬体への当て方、描出結果、高体温個体の判定について両方で常に確認しながら実施した（図2）。

2. 結果：全期間を通じた結果（表1）

（1）感度（発熱個体をIRTで検出できる割合）

全3,197頭のうち、直腸温度での発熱個体は92頭、そのうちIRTで検出された個体は70頭であり、感度は76.1%と算出された。

（2）特異度（非発熱個体をIRTで検出しない割合）

非発熱個体は3,105頭、そのうちIRTで検出されなかった個体は2,826頭であり、特異度は91.1%と算出された。

（3）高発熱個体（直腸温度40℃以上）の感度

全期間で直腸温度40℃以上の個体は15頭存在したが、そのうち14頭をIRTで検出し、感度は93.3%であった。

考察及び今後の方針

当所職員による飼養管理人への測定技術の移転、認定の結果、飼養管理人が実施するIRT測定においても、全発熱個体の8割弱、40℃以上の高発熱個体ではその9割以上を検出可能となり、当所での検証同様その有効性を確認できた。ただし、IRTでは、39℃台前半の比較的軽微な発熱を見逃す傾向があり、高発熱個体でもタイミングにより検出できない場合もある。しかしながら、IRTはその機動性と測定の容易さから測定回数を増やせるため、見逃しは一定程度減らせるものと考えられる。加えて、従来であれば人手確保が難しく直腸温度測定が困難な場合でも、IRTであれば1人でも測定可能でありかつ大掛かりな保定を必要としないため、作業量を減らしつつ、受傷リスクも大幅に低減することができる。なお、IRTは、個体毎の正確な体温測定は困難であるため、体温計を用いた直腸温度測定と完全に取って代われるものではないが、素馬の発熱を検出

するためのスクリーニングとして活用することは、特に多頭数の入検時に有用であり、引き続きデータを蓄積し、効果的かつ効率的な動物検疫に活用していく予定である。

参考文献

1) 農林水産省動物検疫所 調査研究業績集Vol.7

具体的データ

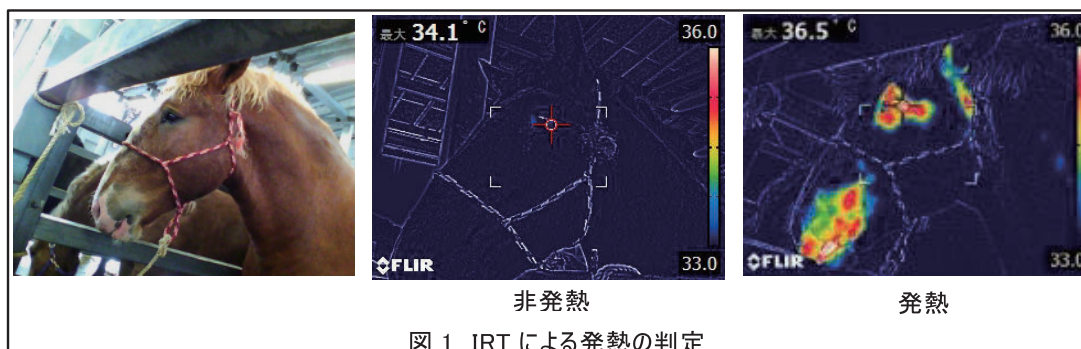


表 1 全期間を通した結果

		IRT高体温		合計	
		+	－		
発熱 〔直腸温度 39.0℃以上〕	+	<u>70</u>	22	<u>92</u>	感度 70/92頭 <u>76.1%</u> 特異度 2,826/3,105頭 <u>91.1%</u>
	－	279	<u>2,826</u>	<u>3,105</u>	
合計		349	2,848	3,197	
		IRT高体温		合計	
		+	－		
高発熱 〔直腸温度40.0℃以上〕		<u>14</u>	1	<u>15</u>	感度 <u>93.3%</u>

参 考 資 料

令和 6 年度動物検疫所業績発表会 発表演題

＜第一部門：検査業務の課題や改善事例の報告＞

- | | |
|---|---------------------|
| 1 犬の輸送事故の再発防止策と業務上の提案 | 羽田空港支所検疫第 2 課 |
| 2 犬猫問合せ一元化窓口の設置と課題 | 羽田空港支所検疫第 2 課 |
| 3 成田支所における新規採用者研修の改革の取組 | 成田支所動物検疫第 2 課 |
| 4 業務効率化のための Office アプリ活用事例について | 関西空港支所検疫第 1 課 |
| 5 Office365 を活用した業務改革の取組 | 成田支所旅具検疫第 2 課 |
| 6 門司支所における GSS 環境の活用事例について | 門司支所検疫第 3 課 |
| 7 オンライン方式による畜産物書類検査について | 沖縄支所検疫課 |
| 8 韓国・釜山におけるアフリカ豚熱（ASF）発生を受けた釜山定期航路の検疫対応 | 門司支所博多出張所 |
| 9 熊本空港における輸出入検査の動向について | 門司支所福岡空港出張所 |
| 10 輸出国におけるリスク低減措置確認のための精密検査実施報告 | 精密検査部病理・理化学検査課 |
| 11 商業施設でのイベントにおける税関と連携した広報の実施 | 成田支所旅具検疫第 2 課 |
| 12 動植物検疫探知犬及び麻薬探知犬の同時探知の取組について | 北海道・東北支所
仙台空港出張所 |

＜第二部門：検査診断事例や検査の技術改善のための調査研究報告＞

- | | |
|--|----------------|
| 1 カナダ産繁殖用豚におけるサルモネラ症摘発事例 | 検疫部動物検疫課 |
| 2 ニュージーランド産展示用めん羊におけるヨーネ病疑い事例 | 検疫部動物検疫課 |
| 3 フェネックギツネの輸入検疫事例 | 門司支所検疫第 2 課 |
| 4 Multiplex real-time PCR 法による迅速畜種鑑別の検討について（第 2 報） | 精密検査部病理・理化学検査課 |
| 5 馬鼻肺炎及び馬インフルエンザウイルスを同時検出可能な Multiplex realtime RT-PCR の導入に向けた検証 | 北海道・東北支所胆振分室 |
| 6 ウエストナイルウイルス感染症の検査体制整備 | 精密検査部微生物検査課 |
| 7 次世代シーケンサーを用いた輸入豚の腸内細菌叢のメタゲノム解析 | 成田支所動物検疫第 1 課 |
| 8 高病原性鳥インフルエンザウイルスの鶏初生ひなへの感染試験 | 精密検査部海外病検査課 |
| 9 輸入牛生皮の到着時薬剤処理状況調査 | 神戸支所検疫課 |
| 10 赤外線サーモカメラを用いた肥育用素馬のスクリーニング的体温測定を導入 | 門司支所検疫第 2 課 |

＜特別演題＞

- | | |
|--|----------------|
| 1 動植物検疫探知犬の所内育成 | 検疫部管理指導課 |
| 2 ニュージーランド及びオーストラリアの郵便局・X 線技術開発施設の視察報告 | 成田支所動物検疫第 2 課 |
| 3 令和 5 年度口蹄疫病性鑑定研修受講報告 | 精密検査部病理・理化学検査課 |
| 4 神奈川県県央家畜保健衛生所の 2 年間を振り返って | 企画管理部企画調整課 |
| 5 愛知県東部家畜保健衛生所への出向報告 | 企画管理部企画調整課 |

＜第三部門：誌上発表＞

該当なし

主な外部発表業績（令和 6 年度）

令和 6 年度調査研究等外部発表の概要

演 題 名	学会・雑誌名
動物検疫における豚熱、アフリカ豚熱、鳥インフルエンザ等の水際対策の現況	日本家畜衛生学会第99回大会家畜衛生シンポジウム
馬の結腸粘膜下組織の水腫性肥厚および壊死性結腸炎	第28回九州・山口・沖縄病理事例研修会
口蹄疫の水際防疫と防疫資材について	第167回日本獣医学会学術集会（司宰機関企画シンポジウム）
うさぎの <i>Pasteurella multocida</i> による化膿性胸膜肺炎	令和 6 年度家畜衛生研修会（病理部門）
カナダ産繁殖用豚におけるサルモネラ症摘発事例	令和 6 年度家畜衛生研修会（細菌部門）
馬鼻肺炎及び馬インフルエンザウイルスを同時検出可能なMultiplex realtime RT-PCRの導入に向けた検証	令和 6 年度家畜衛生研修会（ウイルス部門）
韓国・釜山のアフリカ豚熱（ASF）発生を受けた釜山定期航路の検疫対応	第65回全国家畜保健衛生業績発表会
カナダ産繁殖用豚のサルモネラ症摘発事例	第65回全国家畜保健衛生業績発表会
馬の輸出入検疫状況	令和 6 年度馬防疫検討会「馬感染症研究会」
豚の肺の器質化およびグラム陽性菌を含む被包化膿瘍形成を伴う化膿性気管支肺炎	第237回つくば病理談話会
Genetic analysis based on next generation sequencing of <i>Streptococcus equi</i> subsp. <i>equi</i> isolated from horses imported into Japan	The Journal of Veterinary Medical Science 2024 Jun 18;86(8):828-832.

主な外部発表の要旨

輸入馬から分離された腺疫菌の次世代シーケンサーによる遺伝子解析

中島溪¹⁾、粕谷和史²⁾、仙波裕信³⁾、田上勝則¹⁾、木下優太⁴⁾、丹羽秀和⁴⁾

1) 門司支所検疫第2課、2) 精密検査部微生物検査課、3) 精密検査部病理・理化学検査課、4) JRA競走馬総合研究所

腺疫は腺疫菌 (*Streptococcus equi* subsp. *equi*) によって引き起こされる馬科動物の感染症で、世界的にまん延している重要な病気である。動物検疫所において、検疫中の輸入馬から分離された腺疫菌19株の全ゲノム解析を実施した。分離株のうち15株は発症馬由来で、4株は未発症馬由来であった。19株はコアゲノムの一塩基多型解析の結果3つのBAPS^{※1}グループに分類され、それらは、輸出国、SeM^{※2}遺伝子型又は輸出者と一致していた。宿主の臨床状態にかかわらず、全ての分離株が同様な病原遺伝子を保有しており、また、薬剤耐性遺伝子を保有している分離株はなかった。今回の輸入馬の病態は、むしろ腺疫の未発症馬に事前に暴露されたことを反映している可能性がある。

※1 BAPS (Bayesian analysis of population structure) …ベイズ推定法による系統解析

※2 SeM (*Streptococcus equi* M-like protein) …腺疫菌の表面に発現するたん白質

2025年6月発行

編集・発行 **農林水産省動物検疫所**

横浜市磯子区原町11-1

電話 045-751-5921

<https://www.maff.go.jp/aqs/>